

GF级KM小鼠生长曲线、主要脏器参数及 生理生化指标的测定分析

王俊风¹, 施美莲^{1,2}, 吴艳秋¹, 郭建光^{1,2}, 符杰^{1,2}, 孙宗国¹, 高静华^{1,2}, 徐平^{1,2}

(1. 上海斯莱克实验动物有限责任公司, 上海 201615; 2. 中国科学院上海实验动物中心, 上海 201615)

【摘要】 目的 采用对SPF级KM小鼠进行剖宫产术,用无菌奶妈代乳方法,培育出GF级(即无菌级)KM小鼠,了解GF级KM小鼠的生长发育并绘制出生长曲线;测定其不同生长阶段的主要脏器重量及血液生理生化值并进行比较分析。方法 ①分别称取60只(雌雄各半)0~112日龄GF级KM小鼠体重,绘制其生长曲线;②随机抽取28、56、112日龄的KM小鼠60只(雌雄各半),活体称重,依次剖取心、肝等主要脏器称重;③小鼠眼眶采血,测定其血常规和生化值。结果 GF级KM小鼠的体重随着日龄的增长而逐渐增加,断奶后1~2周内增重最为迅速,4周后的雄鼠体重明显高于雌鼠;主要脏器(心、肝、脾、肺、脑等)重量随年龄增大均逐渐增加,盲肠体积增大尤其明显,而胸腺随着日龄的增加而逐渐萎缩,其重量迅速减轻;同一日龄GF级KM小鼠的雌雄间血常规和生化值指标均存在差异,但随着年龄的增加差异的项目逐渐增多。结论 GF级KM小鼠生长发育和血液生理生化的研究结果可为KM小鼠的标准化及最终成为国际标准品系提供基础数据。

【关键词】 GF级KM小鼠;生长曲线;脏器参数;血液生理生化指标

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)03-0017-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.03.004

Analysis of Growth Curve, Organ Parameter and Physiology and Biochemistry Indicators in Germ-free KM Mice

WANG Jun-feng¹, SHI Mei-lian^{1,2}, WU Yan-qi¹, GUO Jian-guang^{1,2},
FU Jie^{1,2}, SUN Zong-guo¹, GAO Jing-hua^{1,2}, XU Ping^{1,2}

(1. Shanghai SLACCAS Laboratory Animal CO, LTD, Shanghai 201615, China;

2. Laboratory Animal Center of Chinese Academy of Sciences in Shanghai, Shanghai 201615, China)

【Abstract】 Objective To determine the growth rate, organ index, blood Physiological and biochemical Parameters of germ-free KM mice during different growing Period, baby germ-free KM mice were obtained by hysterectomy form SPF KM mice and reared by hand feeding under aseptic condition. **Methods** (1) Weight and body size of the mice were measured at different days(from 0 to 112days; n = 60; 30 ♀, 30 ♂) to create a growth curve (2) The weight of the live mice and major organ size after dissection were measured at different days selected randomly (day = 28, 56, 112; n = 60 30 ♀, 30 ♂) to determine the growth of these mice. (3) The blood Physiological and biochemical Parameters were measured by collected blood samples from the infraorbital vessels. **Results** (1) The weight of germ-free KM mice increased with the growing days, and the growth rate reached maximum within 1-2weeks Post-weaning. Significant

[基金项目]上海市科学技术委员会科研计划项目(08140900800)。

[作者简介]王俊风(1986-),女,助理兽医师,E-mail: wo6998015wo@163.com。

[通讯作者]徐平(1964-),男,研究员,研究方向:实验动物育种,疾病模型,胚胎冷冻。E-mail: xuping@slaccas.com。

difference was found between males and females ($P < 0.05$) after 4th week. (2) All the major organs (heart, liver, spleen, lung and brain) increased with the ages except the thyme gland, and the growth of cecum size was obvious. (3) Difference of blood Physiological and biochemical Parameters was found between males and females at the same age, and the difference types increased with the growth of mice age. **Conclusion** The results of growth rate and blood physiological and biochemical parameters could provide reference for the evaluation of germ-free KM mice colony.

【Key words】 Germ-free KM mice; Growth curve; Organ index; Blood physiological and biochemical parameters

昆明小鼠具有抗病力强、繁殖率和成活率高等特点,作为实验动物在我国生物医学动物实验中占有一定的用量^[1],特别广泛应用于药理学、毒理学等领域的研究以及药品、生物制品的生产与检定^[2]。19 世纪末期,国际上逐步兴起无菌动物和 SPF 级动物的研究,并相继培育出了各种无菌级实验动物,目前国内未见关于 GF 级 KM 小鼠生长发育、生理生化指标的相关报道,GF 级 KM 小鼠也没有作为实验动物模型在科学研究中进行规模化的应用。本实验采用剖宫产术,用 GF 级 C3H/OrlSlac 小鼠做代乳母鼠(2009 年从法国引进),成功地培育出了 GF 级 KM 小鼠,并在无菌隔离器内繁育扩大后,对其后代进行生长发育、脏器重量和血液生理生化指标的测定,为 GF 级 KM 小鼠的推广和使用提供生物学特性基础数据。

1 材料和方法

1.1 动物来源

SPF 级 KM 小鼠、GF 级 C3H/OrlSlac 小鼠由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供(SCXK【沪】2007-0005)(SYXK【沪】2007-0005)。

1.2 饲养管理及环境

实验小鼠均饲养在隔离器中,隔离器内的空气为 100 级全新风,室内温度控制在 $22 \pm 2^\circ\text{C}$,相对湿度 45% ~ 65%,换气次数每小时 15 次;光照明暗交替 12 h/d;动物自由采食和饮水。

小鼠用饲料和垫料由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供(沪饲审【2008】04002),经⁶⁰Co 辐照,剂量为 50 kGy。饲料的营养成分为:粗蛋白 21.5% ~ 22.5%、粗脂肪 5.0% ~ 5.5%、粗灰粉 6.0% ~ 6.5%、粗纤维 4.0% ~ 4.5%、水份 $\leq 10\%$ 、钙 1.2% ~ 1.5%、磷 0.75% ~ 1.0%、赖氨酸 $\geq 1.32\%$ 、蛋氨酸 + 胱氨酸 $\geq 0.78\%$ 。饮用水为纯水机制备的无菌酸化水,PH 值 3.5 ~ 4.5,并经⁶⁰Co 辐照(辐照剂量为 50 kGy)。使用的笼具、水瓶、镊子等物品均经过 121 $^\circ\text{C}$ 、50 min 高压蒸汽灭菌。

1.3 实验仪器

电子天平(精确到 0.001 g,上海天平仪器厂);7020 全自动生化仪(日本日立公司);KX-21N 全自动血球分析仪(日本 Sysmex);5415R 离心机(EPPendoff);动物固定台;手术剪、眼科镊子等常规手术器械。

1.4 实验方法

1.4.1 动物净化方法:实验用 GF 级 KM 小鼠的获得,是采用对 SPF 级 KM 小鼠进行剖宫产术,用无菌奶妈(无菌级 C3H/OrlSlac 小鼠 2009 年自法国引进)代乳方法,2010 年 1 月成功培育出第一批 GF 级 KM 小鼠,GF 级 KM 小鼠在无菌隔离器内进行繁殖传代并扩群。

1.4.2 无菌检测:根据国家标准《实验动物无菌动物的生活环境及粪便标本的检测方法》GB/T 14926.41-2001,取 GF 级 KM 小鼠的饮水、饲料、垫料和新鲜粪便等混合物,接种到脑心浸液肉汤、液体硫乙醇酸盐培养基和大豆蛋白胨肉汤,分别于 37 $^\circ\text{C}$ 、37 $^\circ\text{C}$ 和 27 $^\circ\text{C}$ 下进行培养,每天观察并记录(至 14 d)。

1.4.3 生长曲线的测定:用天平分别称取 60 只(雌雄各半)0 ~ 112 d 的 GF 级 KM 小鼠体重。0 ~ 21 d 每周称两次,21 ~ 112 d 每周称一次,用 SPSS 软件绘制出 GF 级 KM 小鼠的生长曲线。

1.4.4 体重和脏器重量的测定:用电子天平分别称取 3 个日龄无菌 KM 小鼠的体重。眼眶采血后脱颈椎处死,立即剖取心、肝、脾、肺、肾、脑、胸腺、肾上腺、卵巢、睾丸等脏器,用电子天平称取脏器重量。

1.4.5 血液生理指标测定:将小鼠眼眶采血,取 20 μL 全血于 500 μL 稀释液中混匀,用 Sysmex KX-21N 全自动血球分析仪检测 15 项血常规指标,分别为:白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)、血细胞压积(HCT)、红细胞平均容量(MCV)、红细胞平均血红蛋白容量(MCH)、红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)、血小板计数(PLT)、红细胞分布宽度(PDW)、血小板分布宽度(MPV)、平均血小板体积(P-LCR)、红细胞分布宽度变异系数

(RDW-CV)、红细胞分布宽度标准差(RDW-SD)、淋巴细胞百分比(LYM%)、淋巴细胞绝对值(LYM#)。

1.4.6 血液生化指标测定:将剩余的全血于 4℃ 冰箱放置 1 h 后以 3000 r/min 离心 15 min,分离出血清,用日立 7020 全自动生化仪检测指标共 19 项,分别为:总胆固醇(TCHO)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、血糖(GLU)、尿素氮(BUN)、球蛋白(CRE)、CA、磷(P)、IgG、IgA、IgM、C3、C4。

1.5 结果处理

实验数据采用 SPSS13.0 软件进行一维方差统计分析,以平均数 ± 标准差($\bar{X} \pm S$)表示,显著水平为 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 。

2 结果

2.1 GF 级 KM 小鼠的微生物检测结果

GF 级 KM 小鼠本实验期间共检测 6 次,检测结果见表 1。

2.2 GF 级 KM 小鼠的生长曲线

图 1 为 GF 级 KM 小鼠的生长曲线。雌、雄 GF 级 KM 小鼠的体重随年龄的增加而增加,且在断奶(21 日龄)后的 1~2 周内生长最为迅速,之后体重增长变缓,最后趋于稳定;断奶前雌雄小鼠体重基本无差异,断奶后雄性小鼠增重明显快于雌性小鼠,此结果与王俊风、施美莲等^[3]报道的关于无菌级 C3H/OrSlac 小鼠的生长曲线的结果类似。GF 级 KM 小鼠的哺乳期的体重高于左谦益、宁磊^[4]报道的 KM 小鼠同期的生长发育数据。

2.3 GF 级 KM 小鼠 3 个不同日龄的脏器参数

对同一日龄的雌、雄 GF 级 KM 小鼠脏器参数进行了统计分析(表 2),统计结果显示:(1)28 日龄的雌、雄 GF 级 KM 小鼠在体重、肺、肝、右肾 4 项指标的均值比较上差异显著($P < 0.05$);(2)56 日龄的雌、雄 GF 级 KM 小鼠在体重、脾、脑、左肾、右肾 5 项指标的均值比较上存在差异;(3)112 日龄的雌、雄 GF 级 KM 小鼠在体重、耳长、心、肺、脑、肾上腺、胸腺、左肾、右肾 9 项指标上存在差异。说明性别对 GF 级 KM 小鼠脏器参数有影响,且随着年龄的增加存在差异的指标逐渐增加。

表 1 GF 级 KM 小鼠无菌检测结果
Tab.1 The results the examination of GF KM mice

培养基 Cultural media	样品 Sample					
	1	2	3	4	5	6
脑心浸液肉汤 Brain heart infusion broth	—	—	—	—	—	—
液体硫乙醇酸盐培养基 Fluid thioglycollic acid nutrient medium	—	—	—	—	—	—
大豆蛋白胨肉汤 Soy peptone broth	—	—	—	—	—	—
阳性对照 Positive control	+	+	+	+	+	+
阴性对照 Negative control	—	—	—	—	—	—

注:“—”无细菌生长,“+”有细菌生长
Note: “—”germ-free, “+”germ-growth

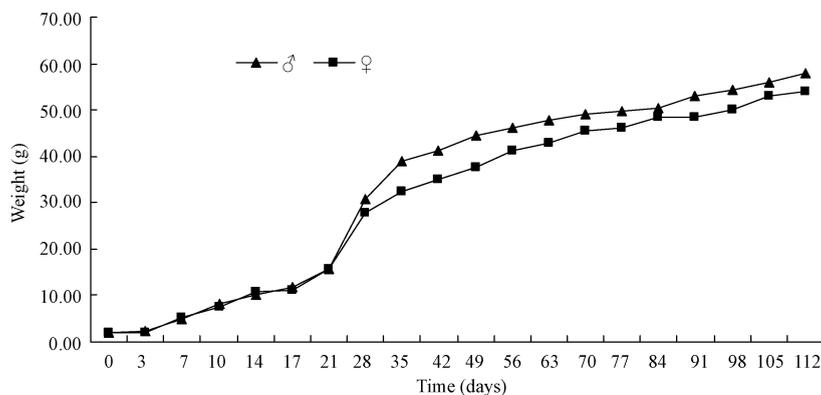


图 1 GF 级 KM 小鼠的生长曲线
Fig. 1 The growth curves of the GF KM mice

表 2 结果显示,随着年龄的增加心、脑、肝、脾、肺等主要脏器重量逐渐增加,只有胸腺随着年龄的增加逐渐萎缩;在解剖时还发现 GF 级 KM 小鼠的盲肠体积特别大(见彩插 2 图 2),与王俊凤,施美莲等^[3]、程水生等^[5]报道的无菌小鼠的特征之一是盲肠巨大结果一致。

2.4 GF 级 KM 小鼠血液生理指标测定结果

对同一日龄的雌、雄 GF 级 KM 小鼠血常规进行了统计分析(表 3),统计结果显示:(1)28 日龄的雌、雄 GF 级 KM 小鼠在 WBC、RBC、HGB、RDW-CV、HCT 5 项指标的均值比较上存在差异;(2)56 日龄的雌、雄 GF 级 KM 小鼠在 PLT、LYM%、MCHC 3 项指标的均值比较上存在差异;(3)112 日龄的雌、雄 GF 级 KM 小鼠在 WBC、PLT、LYM%、MCHC 4 项指标上存在差异。说明性别对 GF 级 KM 小鼠血常规有影响。

从表 3 还发现随着日龄的增加雌雄 GF 级 KM

小鼠 HGB(血红蛋白)逐渐增加、RDW ± SD(红细胞分布宽度)逐渐减小,血液中红细胞分布宽度小说明血液中红细胞的形态、大小一致、整齐。

2.5 GF 级 KM 小鼠血液生化指标测定结果

对同一日龄的雌、雄 GF 级 KM 小鼠血液生化进行了统计分析,统计结果(表 4)显示:(1)28 日龄的雌、雄 GF 级 KM 小鼠在 TCHO、HDL-C、LDL-C、GLU 4 项指标的均值比较上差异极显著($P < 0.01$);(2)56 日龄的雌、雄 GF 级 KM 小鼠在 TP、ALB、ALT、AST、ALP、BUN 6 项指标的均值比较上差异极显著($P < 0.01$);(3)112 日龄的雌、雄 GF 级 KM 小鼠在 TCHO、TG、HDL-C、LDL-C、TP、ALB、BUN、C3 8 项指标上差异极显著($P < 0.01$);在 ALP、CRE、IgG、IgA、IgM 5 项指标上差异显著($P < 0.05$)。说明性别对 GF 级 KM 小鼠血液生化的影响比较大,且随着年龄的增加雌雄间差异更加明显。

表 2 GF 级 KM 小鼠不同日龄的脏器参数测定
Tab. 2 Determination of the organ growth of GF KM mice at different ages BALB/cJ mice

指标 (Parameter)	28-day-old		56-day-old		112-day-old	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
体重 (g) Weight	27.18 ± 2.85	30.17 ± 3.94 *	41.01 ± 5.40	47.24 ± 4.21 **	50.26 ± 3.34	56.01 ± 4.62 **
体长 (cm)	9.17 ± 0.45	9.46 ± 0.43	11.18 ± 0.51	11.18 ± 0.36	11.31 ± 0.40	11.30 ± 0.36
Stem length						
尾长 (cm) Tail length	7.87 ± 0.47	8.17 ± 0.60	9.91 ± 0.60	9.95 ± 0.58	10.26 ± 0.66	9.87 ± 0.31
耳长 (cm) Ear length	1.19 ± 0.08	1.18 ± 0.07	1.39 ± 0.13	1.40 ± 0.10	1.07 ± 0.07	1.17 ± 0.08 **
心 (mg) Heart	138.00 ± 28.36	162.07 ± 34.26	188.50 ± 34.75	212.00 ± 42.18	207.47 ± 26.42	255.13 ± 21.38 **
肺 (mg) Lung	191.43 ± 21.96	216.87 ± 28.53 *	219.17 ± 18.85	226.75 ± 25.44	232.47 ± 32.82	255.87 ± 22.89 *
肝 (mg) Liver	1400.00 ± 183.95	1581.50 ± 258.25 *	2202.08 ± 579.42	2304.50 ± 466.66	2090.00 ± 240.19	2230.07 ± 235.55
脾 (mg) SPleen	130.14 ± 20.78	145.33 ± 31.89	109.75 ± 16.27	89.67 ± 12.09 **	102.93 ± 21.16	101.20 ± 16.47
脑 (mg) Brain	410.93 ± 53.79	405.40 ± 52.49	459.33 ± 24.05	431.33 ± 35.05 *	463.07 ± 38.54	403.40 ± 49.20 **
肾上腺 (mg)	6.36 ± 2.06	7.07 ± 1.33	5.42 ± 1.31	5.36 ± 1.50	9.20 ± 1.37	7.00 ± 1.41 **
Adrenal glangs						
胸腺 (mg) Thymus	180.57 ± 28.20	178.67 ± 38.63	130.27 ± 33.46	120.7 ± 16.55	107.73 ± 26.63	62.47 ± 13.61 **
左肾 (mg)	162.93 ± 28.88	199.27 ± 31.57	255.42 ± 31.82	337.75 ± 55.77 **	278.36 ± 26.20	421.47 ± 54.13 **
Left kidney						
右肾 (mg)	171.43 ± 24.32	198.80 ± 32.79 *	244.33 ± 41.05	336.92 ± 54.65 **	288.80 ± 27.91	425.97 ± 95.36 **
Right kidney						
左卵/辜 (mg)	3.93 ± 1.00	68.80 ± 11.54	13.08 ± 4.12	116.75 ± 13.21	18.20 ± 4.75	142.27 ± 13.48
Left ovary/testis						
右卵/辜 (mg)	4.14 ± 1.23	68.93 ± 10.35	12.09 ± 5.66	122.50 ± 6.75	18.67 ± 5.47	149.00 ± 14.47
Right ovary/testis						
小肠 (cm)	50.79 ± 4.68	50.71 ± 5.38	60.46 ± 5.59	61.03 ± 4.02	59.09 ± 3.32	60.57 ± 2.61
Small intestine						
盲肠 (cm)	3.47 ± 0.35	3.71 ± 0.60	3.70 ± 0.48	3.57 ± 0.49	4.01 ± 0.55	4.07 ± 0.41
Cecum						
结直肠 (cm)	8.50 ± 0.96	8.70 ± 1.60	11.93 ± 1.80	11.23 ± 1.06	11.57 ± 1.55	10.44 ± 0.29
Colon and Rectum						

注: * 组间差异显著 ($P < 0.05$), ** 组间差异极显著 ($P < 0.01$)

Note: * significant difference between groups ($P < 0.05$), ** highly significant ($P < 0.01$)

表 3 GF 级 KM 小鼠不同日龄血液生理指标测定值
Tab. 3 Blood Physiological parameters of the GF KM mice at different ages

生理指标 (Parameter)	28-day-old		56-day-old		112-day-old	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
WBC(×10 ⁹ /L)	4.64 ± 0.78	3.77 ± 0.66**	4.97 ± 1.29	6.13 ± 1.50	4.27 ± 0.65	6.26 ± 2.20**
RBC(×10 ¹² /L)	9.34 ± 1.28	7.89 ± 1.31**	11.76 ± 1.58	11.14 ± 2.03	10.62 ± 0.73	10.52 ± 1.03
HGB(g/L)	157.50 ± 23.22	134.00 ± 13.72**	166.67 ± 14.91	157.75 ± 16.06	175.80 ± 11.14	172.20 ± 15.85
HCT(%)	0.50 ± 0.08	0.44 ± 0.05*	0.56 ± 0.11	0.54 ± 0.09	0.54 ± 0.04	0.54 ± 0.05
MCV(fL)	54.00 ± 1.36	54.19 ± 1.24	50.73 ± 1.23	50.33 ± 1.44	51.13 ± 0.40	51.21 ± 1.38
MCH(Pg)	16.79 ± 0.60	16.61 ± 0.57	16.10 ± 0.69	15.62 ± 0.63	16.57 ± 0.30	16.32 ± 0.64
MCHC(g/L)	311.71 ± 9.4	306.53 ± 10.34	317.25 ± 8.16	310.25 ± 5.45*	323.93 ± 4.53	318.80 ± 6.98*
PLT(×10 ⁹ /L)	810.29 ± 194.29	922.67 ± 99.37	722.33 ± 104.11	976.42 ± 213.49**	796.80 ± 104.68	1084.33 ± 120.17**
LYM%(%)	0.81 ± 0.05	0.81 ± 0.06	0.85 ± 0.04	0.71 ± 0.14**	0.84 ± 0.04	0.60 ± 0.13**
LYM#(×10 ⁹ /L)	3.65 ± 0.82	3.13 ± 0.67	3.80 ± 1.44	4.30 ± 1.20	3.58 ± 0.58	3.53 ± 0.91
RDW-SD(%)	33.51 ± 3.10	32.04 ± 2.43	28.56 ± 0.67	28.58 ± 1.33	29.31 ± 0.40	29.56 ± 1.86
RDW-CV	0.18 ± 0.03	0.15 ± 0.02**	0.17 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.18 ± 0.01	0.17 ± 0.02
PDW(fL)	7.05 ± 0.55	6.89 ± 0.34	7.48 ± 0.72	7.20 ± 0.49	6.73 ± 0.23	6.87 ± 0.41
MPV(fL)	6.07 ± 0.29	5.97 ± 0.25	6.12 ± 0.33	6.03 ± 0.40	5.85 ± 0.19	5.93 ± 0.18
P ± LCR(%)	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01

注: * 组间差异显著(P < 0.05), **组间差异极显著(P < 0.01)

Note: * significant difference between groups (P < 0.05), **highly significant(P < 0.01)

表 4 GF 级 KM 小鼠不同日龄血液生化指标测定值
Tab. 4 Blood biochemical parameters of the GF KM mice at different ages

生化指标 (Parameter)	28-day-old		56-day-old		112-day-old	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
TCHO	2.13 ± 0.31	2.74 ± 0.34**	2.16 ± 0.39	2.58 ± 0.35*	2.19 ± 0.23	2.48 ± 0.25**
TG	1.14 ± 0.28	1.25 ± 0.30	1.88 ± 0.32	1.63 ± 0.57	0.64 ± 0.14	1.16 ± 0.32**
HDL-C(L)	1.54 ± 0.24	1.97 ± 0.26**	1.60 ± 0.40	1.86 ± 0.26	1.61 ± 0.16	1.89 ± 0.18**
LDL-C(L)	0.26 ± 0.08	0.36 ± 0.08**	0.35 ± 0.11	0.29 ± 0.11	0.3 ± 0.06	0.21 ± 0.06**
TP	47.98 ± 3.02	46.34 ± 2.07	56.55 ± 3.25	52.24 ± 3.20**	51.42 ± 2.00	48.66 ± 3.04**
ALB(mmol/L)	22.98 ± 1.39	22.47 ± 1.02	35.71 ± 2.89	31.42 ± 3.89**	25.4 ± 1.78	23.48 ± 1.26**
ALT(H)	43.86 ± 8.41	38.55 ± 9.00	28.45 ± 7.30	39.12 ± 6.35**	46.09 ± 10.00	48.50 ± 10.32
AST(H)	131.10 ± 20.59	114.70 ± 34.77	112.63 ± 20.22	148.45 ± 28.33**	111.20 ± 12.75	115.74 ± 26.61
ALP	341.00 ± 70.77	328.40 ± 64.70	380.67 ± 69.77	218.17 ± 60.86**	159.36 ± 34.20	128.00 ± 33.23*
GLU(H)	9.07 ± 1.14	11.27 ± 1.50**	8.72 ± 0.79	8.56 ± 1.89	8.18 ± 0.93	8.19 ± 1.38
BUN(H)	9.02 ± 1.09	9.21 ± 1.12	10.69 ± 1.22	12.20 ± 1.51**	7.90 ± 1.20	10.14 ± 1.32**
CRE(H)	23.44 ± 2.20	23.28 ± 1.73	17.16 ± 1.98	18.87 ± 2.06	23.54 ± 2.43	26.36 ± 3.50*
CA(H)	2.13 ± 0.05	2.16 ± 0.09	2.40 ± 0.11	2.43 ± 0.18	2.00 ± 0.07	1.94 ± 0.10
P	4.67 ± 0.51	4.67 ± 0.48	3.46 ± 0.34	2.79 ± 0.94*	3.12 ± 0.33	3.14 ± 0.29
IgG	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.02	0.02 ± 0.02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.01*
IgA	0.13 ± 0.09	0.08 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.03	0.07 ± 0.00	0.08 ± 0.01*
IgM	0.03 ± 0.02	0.02 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.01*
C3	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.05	0.18 ± 0.07	0.15 ± 0.07	0.15 ± 0.02	0.18 ± 0.02**
C4	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00

注: * 组间差异显著(P < 0.05), **组间差异极显著(P < 0.01)

Note: * significant difference between groups (P < 0.05), **highly significant(P < 0.01)

随着日龄的增加,所测的 19 项血液生化指标中反映肾功能的 BUN(尿素氮)和 ALB(白蛋白)先增加又减小;血糖(GLU、CA)、P、免疫球蛋白和补体逐渐减小与王俊风,施美莲^[3]报道的无菌级 C3H/OrlSlac 小鼠的结果一致,这一结果与无菌动物生活在无菌环境下,机体的免疫系统处于休眠状态,没有接受任何菌群的刺激有关;CRE(球蛋白)先减小

后又增加。

3 讨论

在无菌动物的培育和饲养过程中,无菌状态的维持是一个难点,从隔离器的消毒、无菌动物的传入到平时的物品传入和传出都必须进行严格的无

菌操作,另外定期进行无菌检测也是维持无菌状态的关键;经解剖发现所有 GF 级 KM 小鼠盲肠无一例外地明显膨大,几乎占据整个腹腔的 25% ~ 30%,在饲养的过程中还发现大于八周龄的 GF 级 KM 小鼠经常出现突然死亡,这极有可能与其盲肠异常膨大且肠壁变薄有关。

无菌动物生活在无菌的隔离器环境中,用现有的检测方法无任何可检测到的微生物的影响,其免疫系统未被激活,作为机体重要防御系统的白细胞群的水平比夏介英、雷培琪^[6]报道 SPF 级 KM 小鼠的低很多,而且本实验中测出的 GF 级 KM 参与体液免疫的免疫球蛋白的水平普遍较低,这些特征决定了无菌动物有很多 SPF 级动物和清洁级动物不可替代的应用^[7-9]。

目前国际上无菌动物的应用还很少,国内没有关于 GF 级 KM 小鼠的生物学特性数据的报道,而这些数据是实验动物饲养和试验中重要的基础数据,脏器重量及脏器系数是衡量动物功能状态的重要指标,血液生理生化正常值是生物医学研究的基础指标,是临床医疗和科学研究的重要依据,是评价封闭群动物遗传标准的一项重要指标^[10]。对 GF 级 KM 小鼠的生长发育、脏器重量、血液学参数和生化指标进行测定,可为该无菌小鼠标准化鉴定和质量控制提供依据,同时亦为无菌动物在我国医学科

研中的广泛应用提供重要的基础数据。

参考文献:

- [1] 刘殿峰,刘淑霞,刘秀霞,等. 昆明小鼠生物学特性标准化研究. 中国生物制品学杂志, 2001, 14: 56 - 59.
- [2] 胡建华,姚明,崔淑芳,等. 实验动物学教程[M]. 上海: 上海科学技术出版社. 2009. 1.
- [3] 王俊风,施美莲,赵立虎,等. 无菌级 C3H/OrlSlac 小鼠生长繁殖、主要脏器参数以及血液生理生化指标的测定分析[J]. 中国实验动物学报, 2011, 4(2): 124 - 128.
- [4] 左谦益,宁磊. 昆明小鼠生长发育指标及繁殖性能测定[J]. 中国实验动物学杂志, 2001, 12(4): 199 - 202.
- [5] 程水生,木内吉宽. 无菌动物技术管理-无菌小鼠繁殖与监测[J]. 中国兽药杂志, 1998, 32(3): 19 - 22.
- [6] 夏介英,雷培琪,等. SPF 级 KM 小鼠主要脏器重量和血液生化值的测定[J]. 四川生理学杂志, 2009, 31(3): 104 - 107.
- [7] 王荫槐,王钜. 悉生动物学[M]. 辽宁大学出版社, 2007, 147 - 150.
- [8] 张琨,孙淑华,仇慧敏,等. 无菌豚鼠与普通豚鼠血液学参数的比较[J]. 中国实验动物学报, 2010, 4(2): 176 - 180.
- [9] 仇慧敏,孙淑华,胡晓燕,等. 无菌大鼠血液学及血液生化指标正常参考值的测定[J]. 中国实验动物学报, 2011, 21(5): 26 - 31.
- [10] 王冬平,李慕,尚世臣,等. 不同日龄 SPF 级 KM 小鼠血液生理生化正常指标的探讨[J]. 实验动物科学, 2008, 8(4): 5 - 8.

[修回日期]2011-12-16